

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 52-110835

(43)Date of publication of application : 17.09.1977

(51)Int.Cl.

A61K 31/165

A61K 31/19

A61K 31/22

A61K 31/24

A61K 31/165

A61K 31/19

A61K 31/22

A61K 31/24

(21)Application number : 51-026779

(71)Applicant : MICROBIAL CHEM RES FOUND

(22)Date of filing : 11.03.1976

(72)Inventor : UMEZAWA HAMAO
TAKEUCHI TOMIO
TAKAMATSU AKIRA
MORI TOSHIKI(54) REMEDY FOR IMMUNOLOGICAL DISEASES CONTAINING BENZANILIDE
DERIVATIVE AS ACTIVE INGREDIENT

(57)Abstract:

PURPOSE: Low-toxicity benzanilide derivatives useful for treating chronic allergic diseases which require continued administration for a long period, especially auto-immunological diseases.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑨日本国特許庁
公開特許公報

⑩特許出願公開
昭52—110835

⑪Int. Cl.	識別記号	⑫日本分類	庁内整理番号
A 61 K 31/165	ABC	30 G 126.21	7432—44
	ABF	30 G 128.11	7432—44
A 61 K 31/19	ABC	30 G 128.121	7432—44
	ABF	30 G 127.1	7432—44
A 61 K 31/22	ABC	30 H 211	5727—44
	ABF	30 H 23	5727—44
A 61 K 31/24	ABC		
	ABF		

⑬公開 昭和52年(1977)9月17日

発明の数 1
審査請求 有

(全 12 頁)

⑭ベンズアニリド誘導体を有効成分とする免疫疾患治療剤

⑮特 願 昭51—26779

⑯出 願 昭51(1976)3月11日

⑰発 明 者 梅沢 沢夫
東京都練馬区豊玉北4丁目23番
地

⑱発 明 者 竹内富雄
東京都品川区東五反田5—1—
11

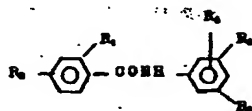
⑲出 願 人 財団法人微生物化学研究会
東京都品川区上大崎3丁目14番
23号

⑳代 理 人 弁理士 矢野武 外1名
最終頁に続く

発 明 の 名 称
ベンズアニリド誘導体を有効成分と
する免疫疾患治療剤

特許請求の範囲

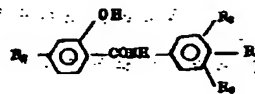
1 次の一般式



(式中、 R_1 は水素原子、又は $-O-C(=O)-Y$ (Y は低級アルキル基、又はフェニル基を示す)、 R_2 は水素原子、ヘロゲン原子、低級アルキル基、又はフェニル基、又は低級アルキル基を示す。 R_3 及び R_4 は水素原子、ヘロゲン原子、ニトロ基又は低級アルキル基を示し、 R_5 は2位又は4位のいずれかに置換した水素原子又は低級アルキル基、 $-O-C(=O)-Y$ (Y は上記で示すものと同じ意味をもつ)又は $-O-C(=O)OOR$ を示す)で置換されるベンズアニリド

誘導体を有効成分として、その1種又は2種以上に不活性な無機塩基を加え又は加えずしてなる免疫疾患治療剤。

2 次の一般式



(式中、 R_1 は水素原子、ヘロゲン原子、トリフクロメチル基又は低級アルキル基を示し、 R_2 及び R_3 は水素原子、ヘロゲン原子、ニトロ基又は低級アルキル基を示す。 R_4 は水素原子、低級アルコキシ基、 $-O-C(=O)OOR$ 又は $-O-C(=O)-Y$ (Y は低級アルキル基又はフェニル基を示す))で置換されるベンズアニリド誘導体を有効成分として含有する特許請求の範囲第1項記載の免疫疾患治療剤。

2、3、5'-ジクロロ-2、4'-ジヒドロキシベ

Oc1ccccc1C(=O)Oc2cc(O)c(R)c(R)c2

扱われるベンズアニリド誘導体を有効成分と
して含有する特許請求の範囲は、^{記載}人の免疫疾患
の治療。

3', 5'-ジクロロ-2, 2'-ジヒドロキシベン
ズアエリドを有効成分として含有する特許請求
の範囲第4項記載の免疫調整剤。

4 免役疾患治療期が自己免役疾患治療期である
等請求の範囲第1224又は1246記載の免役
疾患治療期。

16. 有効成分のベンズアニリド誘導体を1~20重量
含有する教育剤である特許請求の範囲第12
条および又は第1項記載の免疫疾患治療剤。

13 有効成分のベンズアニリド誘導体を1~20重量
含有する坐剤である特許請求の範囲第2、3、
4、5、6又は7項記載の発明に係る原料。

本発明は種々の免疫応答抑制作用を有するベンズアニリド誘導体を含む免疫疾患治療剤に關し、更に詳しくは免疫学的疾患及び免疫学的反応の關与する炎症疾患に對し、治療効果を有するベンズアニリド誘導体を有効成分とする免疫疾患治療剤に關する。

本発明者らは先にペンズアエリド系化合物のうち、ヒスタジン脱炭酸酵素の活性を強く阻害するものを見出し、これらの化合物が抗炎症作用を示すことから、医薬としてアレルギー症の治療、胃液分泌抑制、抗炎症、解熱等の市販剤として有効

① 免疫疾患治療剤が多発性硬化症(MS)治療剤である特許請求の範囲第1および又は第2項記載の免疫疾患治療剤。

⑤ 免疫疾患治療剤が皮膚アレルギー治療剤である特許請求の範囲第1224又は5項記載の免疫疾患治療剤。

① 皮膚アレルギー治療剤が接触性アレルギー治療剤である特許請求の範囲第 5 項記載の免疫疾患治療剤。

1a 投与単位形類あたりの投与量が10~500mgである
 各許請求の範囲第1, 2, 4, 5, 6, 7, 8又は10
 項の発覚疾患治療剤。

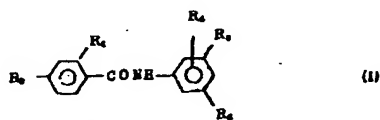
第10記載の免疫疾患治療剤。

12 製剤の投与形態がカプセル剤である特許請求
の範囲第14項の免疫疾患治療剤。

・遊離12項の免疫疾患治療剤。

であることを発見し、これらの製造方法に関する
特許として、特願昭 47-57585、48-19899、48-44922、
48-45990、48-72451、48-140111を出願した。

本発明者らは上記及び上記以外の化合物を含む一連のペンズアニリド誘体の薬理作用につき更に検討を全こなった結果、これら化合物のうち次の一般式(II)



(式中、 R_1 は水酸基、又は $-O-\overset{\underset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-Y$ (Y は低級アルキル基、又はフェニル基を示す)、 R_2 は水素原子、又は低級アルキル基、フッ素置換低級アルキル基、又はヘロゲン原子を示す。 R_3 及び R_4 は水素原子、ニトロ基、低級アルキル基又はヘロゲン原子を示し、 R_5 は2'又は4'位に置換された水酸基、低級アルコキシ基、又は $-O-\overset{\underset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-Y$ (Y は上記で示すもの)と

同じ意味をもつ)、又は-0-0H000Hを示す]で示される化合物が強い免疫応答抑制作用を示し、種々の免疫学的反応に伴うアレルギー症状を抑制する効果をもつことを見出した。

従来、手術手術及び自己免疫疾患等の治療に用いられる免疫抑制剤としては、シクロホスファミド、アザチオプリン、6-メルカプトプリン等の抑制作用をもつ化合物が知られ、又マイトマイシン、ヒューロマイシン等の広範囲抗生物質が知られているが、それらの作用は主として細胞毒に基づくものであり、又免疫学的にはステロイド剤も用いられているが、これらはいずれも長期連続投与では副作用が現われるため長期の連続投与が必要とされる自己免疫疾患等の治療薬としては適当とはいえない。

これに対し本発明の免疫抑制剤の主要成分である一般式IIで示される化合物は、これら全知のものと同なりその作用は細胞毒性に基づくもので

したときの腫瘍の増大を比較することにより証明される。

例えば、第1図にSRBC腫瘍により誘発される遅延型アレルギー反応に対する化合物Iの効果を示し、実験1は免疫時における投与結果を、実験2は誘発時における投与結果を、左に腹腔内注射、右に経口投与の結果を示す。第1図に示した様に誘発時(day 4)に化合物Iを投与したものは腹腔及び経口のいずれの投与でも足腫瘍が抑えられ、特に1mg/マウス(50-200mg/kg)の投与では完全にこれを阻止した。しかし、免疫時(day 0)に投与したものではその抑制は弱い。又は殆んどみられない。

一般式IIで示される主たる化合物についてその1mg/マウスを免疫時及び誘発時に腹腔内投与したときの足腫瘍の抑制率を第1表に示す。

なお、本表には後述する1抗体産生抑制効果もまとめて示されている。

はなく、極めて毒性の少ない化合物であつて、長期の連続投与を必要とする慢性アレルギー性疾患、特に自己免疫疾患を処置する薬剤の活性物質として極めて有用であり、本発明薬剤は活性成分として上記一般式IIで示されるベンズアニリド誘導体の1種又は2種以上に常用の不活性な薬剤用担体を加え又は加えない組成物である。

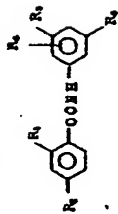
一般式IIで示される化合物の薬理作用は以下の試験結果から明らかにされた。

<薬理試験>

本発明の化合物の遅延型アレルギー反応に対する抑制効果は、例えば Lagrange (Lagrange, P. H. et al. J. Exp. Med. 159, 528 (1974)) の方法により、SRBCをアジュバントなしにマウス腹腔足腫に皮下注射して免疫した後、4日後に他方の足腫に抗原SRBCを接種して誘発される足腫瘍を24時間後に測定し、免疫時(day 0)に化合物Iを投与又は誘発時(day 4)に化合物IIを投与

上記の遅延型アレルギー反応に対する抑制作用が非特異的な消炎効果によるものでないことは、カラグレン誘導体に対し強い抑制効果を示すブスビリン、メフナム酸、インドメサシン等の薬物1mg/マウスを投与した場合、上記遅延型アレルギー反応は殆んど抑制されず、又ロイベプテン、ベプス、メグン、サモスタテン等のプロテアーゼ阻害活性を有する物質を投与した場合にも抑制がみられないことから明らかである。

図1表 一般式(1)で示される化合物の免疫応答に対する抑制効果



化合物	置換基						減速アレルゲン-抑制作用		1次免疫 生体作用
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	免疫抑制率	免疫抑制率	
1	OH	H	Cl	4'-OH		Cl	-	++	++
2	OH	H	Cl	4'-OH		Cl	-	++	++
3	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		Cl	-	++	++
4	OCH ₃	H	Cl	4'-OCH ₃		Cl	-	++	++
5	OCH ₃	H	Cl	4'-OCH ₃		Cl	-	++	++
6	OCH ₃	H	Cl	4'-OCH ₃		Cl	-	++	++
7	OCH ₃	H	Cl	2'-OCH ₃		Cl	-	++	++

化合物	置換基						減速アレルゲン-抑制作用		1次免疫 生体作用
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	免疫抑制率	免疫抑制率	
8	OCH ₃	H	Cl	4'-OH		Cl	-	++	++
9	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		Cl	-	++	++
10	OH	H	Cl	4'-OH		Cl	-	++	++
11	OH	H	Cl	4'-OH		Cl	-	++	++
12	OH	H	Br	4'-OH		Br	-	++	++
13	OH	H	Br	4'-OH		Br	-	++	++
14	OH	H	Br	4'-OCH ₃		Br	-	++	++
15	OCH ₃	H	Br	4'-OCH ₃		Br	-	++	++
16	OH	H	Br	4'-OH		Br	-	++	++
17	OH	H	Br	4'-OH		Br	-	++	++
18	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		Cl	-	++	++
19	OH	H	Cl	4'-OH		Cl	-	++	++
20	OH	H	Cl	2'-OH		Cl	-	++	++
21	OH	H	Cl	2'-OH		Cl	-	++	++
22	OH	H	Cl	4'-OH		H	-	++	++

化合物	置換基						減速アレルゲン-抑制作用		1次免疫 生体作用
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	免疫抑制率	免疫抑制率	
23	OH	H	Cl	2'-OH		H	-	++	++
24	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		H	-	++	++
25	OCH ₃	H	Cl	2'-OCH ₃		H	-	++	++
26	OH	H	Cl	4'-OH		H	-	++	++
27	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		H	-	++	++
28	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		H	-	++	++
29	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		H	-	++	++
30	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		H	-	++	++
31	OH	H	Cl	4'-OCH ₃		H	-	++	++
32	OCH ₃	H	Cl	4'-OCH ₃		H	-	++	++

注 抑制率
0~25%
25~50%
50~75%
75%以上

更に、本発明による化合物の免疫応答に対する効果は実験的アレルギー性肺気腫炎(EAE)に対する顕著な免疫抑制及び治療効果によっても実証される。即ち、体重約300gのモルモットに抗原成分である塩基性蛋白(BP)を肺内投与として Freund の完全アジュバントと共に接種すると、10日目より顕著な体重減少と麻痺症状を起して死亡するが、BP接種後3日目より21日目まで化合物-1を1.0mg/モルモット毎日1回腹腔内投与した場合に、5例中1例は全く免疫せず、他の4例は15~16日目より後肢麻痺をきたしたが間もなく麻痺症状は消失し、化合物-1の投与を中止した後も再発はみられず完全に治癒した。

この結果を図2図に示す。

図2図はモルモットのEAEに対する化合物-1の免疫抑制効果を示す図であり、図中○は後肢マヒ、●は両後肢マヒ、◎は前肢にも及ぶマヒ、⊙は死亡、⊕はPCAはフロイドの完全アジュバント。

バンド (Freund's Complete Adjuvant)、BPは塩基性蛋白を示す。

又、ジニトロクロムゲンセン (DNOB) によって惹起されるモルモットの多相アレルギー反応は、誘発時に化合物-1を投与することにより有意に抑制される。

モルモットの耳皮皮膚面に10% DNObアセトン溶液0.1mlを塗布して局作し、14日後に局作モルモットの側腹部を被毛した後、0.1% DNObアセトン溶液を塗布すると、24時間後に塗布部位に腫脹を発生、及び腫脹が現われる。

誘発前48、24及び25時間前に化合物-1をそれぞれ100mg/kgを腹腔内投与し、誘発後24時間目の皮膚反応を観察し、次の特定基準により比較した。その結果を図2表に示す。

表2表 DNOBに対する多相アレルギー抑制効果

化合物 Ⅵ	皮膚反応		
	1	2	3
無投与群	+++	+++	+++
-1	+	+	++
-2	+	++	++

+++ 強い発赤と硬結をともなう腫脹

++ 明らかな発赤と軽度の腫脹

+

点状する発赤

- 変化なし

又、体質性抗体の誘発する即時型アレルギーであるマウスの全身性アナフィラキシー試験に於いて、免疫時又は誘発時に上記一般式Ⅲで示される活性物質を投与するとき、アナフィラキシーショック症状の強い抑制効果が認められる。即ち、卵白アルブミン100mg/kgを Freund完全アジュバンドと混和し、拘一を腫脹液として4day系マウスの皮下に注射し、4ヶ月後に以下の試験に供した。

この方法によって局作されたマウスは、卵白ア

ルブミン100mg/kgを腹腔内に投与するとき、75-100分後にショックを来して死亡する。

第5表Ⅲは化合物-1を免疫時に投与した場合のショック抑制効果を見る。その結果を示したものである。

第5表Ⅳは代表的な化合物について誘発前に投与した場合の結果を示す。

第5表Ⅲ マウスのアナフィラキシーショック抑制効果

化合物-1 の投与量	動物Ⅵ					
	1	2	3	4	5	6
0.25mg/マウス	10	21	22	0V	0V	0V
1.0mg/マウス	22	23	30	0V	0V	0V
対照区	14	25	27	30	33	37

第5表Ⅳ 化合物-1を免疫時に腹腔内投与

化合物Ⅵ	動物Ⅵ				
	1	2	3	4	5
-1	35	0V	0V	0V	0V
-2	10	35	0V	0V	0V
-12	0V	0V	0V	0V	0V
-27	0V	0V	0V	0V	0V
対照区	15	18	18	30	0V

(注) 化合物を誘発前5及び25時間1mg/マウス腹腔内投与、0Vはショック後生存したマウス数はショック誘発後、死亡までの時間例を示す。

第5表Ⅲ及びⅣに示す様に、対照群がいずれも誘発注射後に強いショック症状を示して死亡するのに対し、一般式Ⅲの化合物を投与したものはいずれも高い生存率を示している。

又、一般式Ⅲで示される化合物はモルモットを用いた全身性アナフィラキシー (FOA) の抑制作用を示す。即ち、卵白アルブミンと Freund完全アジュバンドを混合したものを接種してモルモットを免疫し、得られた抗血清を用いてFAO反応に対する化合物(Ⅰ)の作用を検討した。各標本の抗血清を0.1mlずつ正常モルモット皮内に接種し、同時に50mg/kgの化合物(Ⅰ)を腹腔内に投与した。4時間後、50%の卵白アルブミンとエグザンスブルー混濁を腹腔内に注射し、30分後抗血清注射部位の青色斑の大きさをノギスで測定した。10%の青色

量を示す抗血清の最大稀釈倍数を end point とすると、第4表に示す様に化合物-1, -2, -12, -27を投与したモルモットでPCA反応の抑制がみられた。

第4表 モルモットPCA抑制効果

化合物名	経口投与 (100mg/kg)	抗血清の最大稀釈率	
		腹腔内投与(50mg/kg)	
		実験1	実験2
対照区	1060	1024	1558
-1	548	64	515
-2	736		
-12	548		
-27	284		

一般式IIIで示された化合物の1次抗体産生に対する抑制作用は、例えば、羊の赤血球(BRBO)を抗原としてddY系マウスに腹腔内注射して免疫を施し、同時に一般式IIIで表わされる活性物質を腹腔内注射又は経口投与し、4日後にその脾臓をとり出し、その抗体産生細胞数を測定することにより証明される。

脾臓細胞培養を用いた *in vitro* の1次抗体産生系において、化合物-1の添加により抗体産生細胞数は有意に減少するが、培養系中の有核細胞数及び Viable cell counts には減少がみられないことから上記の抗体産生抑制は細胞毒性によるものでないことが確認された。

第1表に一般式IIIで表わされるベンズアニリド誘導体をそれぞれ1mg/マウス腹腔内に投与し、上記の方法により求めた1次抗体産生抑制率を示す。

<毒性>

本発明の化合物の毒性は一般に甚だ低く、これらの化合物をマウスの腹腔内に1回投与した際の急性毒性(LD₅₀)はいずれも1000mg/kg以上である。代表的な化合物についてLD₅₀値を示すと次の通りである。

特開昭52-110835 (g)
即ち、BRBO10⁶個をマウスに腹腔注射して免疫を施し、

同時に1mg, 0.25mg, 0.0625mg, 0.0156mg/マウスの各量の化合物-1(第1表参照)を腹腔内注射して4日後、脾臓細胞の抗体産生細胞数をJerneの方法により検討した。

その結果は第1図に示すように、各量の化合物-1の投与により抗体産生細胞数の減少を示し、マウスのBRBOに対する1次抗体産生の抑制がみられた。しかし、同様の方法による2次免疫時の抗体産生抑制効果は化合物-1においては認められな

い。
第5図は、マウスの1次抗体産生に対する化合物-1の抑制効果を示すグラフであり、化合物-1を投与しない場合の抗体産生細胞数(142×10³/脾臓)を100とし、化合物-1の各投与量に対する抗体産生細胞数の比率で示した。投与量の増加につれて抑制の増強がみとめられる。更ニ Michell, Dutton (J. Exp. Med. 124, 423(1967))の方法によるマウス

第5表

化合物名	LD ₅₀ (mg/kg)
1	2400
2	2500
6	2800
7	>5000
12	1180
13	1280
15	2200
19	1800
23	1550
25	2500
27	>5000
28	2800
29	2580
30	2400

LD₅₀
化合物-1のマウス経口投与では、LD₅₀ 3600mg/kg
以上ラットを用いた場合は、腹腔内投与2200mg/kg、
経口投与では4200mg/kg以上で毒性は極めて少ない。
又、化合物-1及び化合物-2をラットに對し、
経口及び腹腔内投与で125, 50, 200mg/kg、それ
ぞれ1ヶ月連続投与した場合にも異常は全く認め
られなかった。

前述の薬理試験のうち、モルモットの実験的ア

アレルギー性腸胃炎 (EAE) は自己免疫疾患の1つと考えられ、人における多発性硬化症 (MS) との関連性が予想されているモデル疾患である。

モノカルボトブリン及びシクロフォスファミド等の公知の免疫抑制剤は中毒量に近い投与量で EAE の発症を抑制するが、投与中止後に潜伏病巣を呼び起すことが知られている。

本発明の一般式 (I) で表わされる化合物は、EAE に対し強い発症抑制及び治療効果を示し、投与中止後も発症がみられまい。また公知の免疫抑制剤の様な副作用性をもたないため、長期の連続投与によっても重篤な副作用をうける恐れのない化合物であって、MS 等の自己免疫疾患に対する本質的な治療薬として極めて有用なものであると考えられる。

一般式 (I) で示される化合物は強い細胞膜安定化作用をもち、特に化合物-1 は赤血球の加齢凝集試験でメフ・ナム酸、インドメサチンと同等の凝

沈剤等によって起る自然アレルギー及び移植免疫における組織反応の抑制又は予防にも効果を示すものである。

又、一般式 (I) で示される化合物はそのヒスタジン脱炭酸酵素の阻害作用に基づく抗炎症作用だけでなく、種々の即時型のアレルギー性疾患、例えば気管支喘息、枯草熱、蕁麻疹、じん麻疹、アレルギー性鼻炎、アレルギー性胃炎等の治療として有用な薬物と考えられる。

本発明の新しい薬用は、免疫学的秩序によっておこる即時型及び遅延型アレルギー疾患、特に自己免疫疾患に対して適用され、活性物質として前記一般式 (I) で示されたペンズアミド誘導体の1種又は2種以上を含むものである。本発明の免疫疾患治療剤は、固体又は液体の医薬用担体と混合して調製され、経口投与又は非経口投与することができ、経口投与用の固体組成物は圧縮錠剤、カプセル剤、顆粒剤、粉末剤及びトローチ剤を包

含する。前述の薬理試験にかける化合物-1 の投与時期と抑制効果の關係からみて、この化合物の免疫応答に対する抑制作用は少くともその細胞膜に対する特異的な使用に基づいて、腺作リンパ球と抗原の結合、又は樹状細胞 (マストセル等) と抗体との結合の段階等を阻害することによるものと予想される。

EAE、その他の遅延型アレルギーに関する薬理試験の結果から、本発明による化合物が遅延型アレルギー反応が主たる発症の機転と考えられている自己免疫疾患、例えばリウマチ熱、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、進行性全身性硬皮症、多発性硬化症、アレルギー性腎炎、後天性溶血性貧血、慢性白血球減少症、特発性血小板減少性紫斑病、筋性多発性筋炎及び皮膚筋炎等に対しても、有効な治療薬としてその効果を発現し得る可能性が明らかにされた。更に、本発明による化合物は化粧品、化学繊維、皮革及び合成

合する。これら固体組成物を調剤するには、前記一般式 (I) で示される化合物の1種又は2種以上を、例えば乳糖、ショ糖、ソルビット、マンニット、でん粉、炭酸カルシウム、アミロペクタン、セルロース誘導体の糖を薬液担体と混合し、必要に応じて適当な填充剤、結合剤等の補助剤を添加することが出来る。

又、無水安息ナトリウム等の塩基性緩衝塩を加えた投与に緩衝性調整を施したものは、腸胃からの吸収を向上させる効果がある。

経口投与用液体組成物は、例えば、水、エタノール、グリセリン、プロピレングリコール等の通常使用される不活性稀釈剤を含む乳剤、懸濁剤、溶液剤及びシロップ剤を包含する。又、これらの調剤にあたって適当な緩衝剤、防腐剤、甘味剤、香料、保存剤等を使用することが出来る。注射剤は希釈剤として滅菌蒸留水が用いられるが、本発明の化合物は一般に融解性のため、エタノール、ブ

ロビレングリコール、もしくは生体内で薬理的に作用しない脂肪族アミン類、例えば、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン等のアミンアルコール類、又はグルカミン、
 5 ユーロチアルグルカミン、グルコサミン及びメチルグルコサミン等の糖アミン類を加えて溶解することが出来る。注射用懸濁液は同様に適当な賦形剤を加えて適宜の懸濁注射剤の製法により調製しうる。これら注射用組成物は、例えば、
 10 分散剤、懸濁化剤、無毒化剤、安定化剤の如き慣用の補助剤を加えて処方され、注射用液剤又は注射用懸濁剤として慣用条件下に調製し、密閉アンブル又はビンに充填される。

非注射用投与用の製剤としては、注射用以外に坐剤及び軟膏剤が含まれる。前者はカカオ脂、ラウリン脂、イムハクセン等の慣用の基剤を用い、必要に応じて界面活性剤、保存剤、その他の補助剤を加え、本発明の活性物質の微粉末と混合して成造

される。後者の基剤としては、脂肪、ラノリン、ワセリン、ペラフィン、グリコール類及び高級アルコール類が用いられ、必要に応じて界面活性剤、保存剤等を加えることが出来るが、軟水軟膏又は軟水ワセリン等の乳剤性基剤、又はワセリン、プラスチックベース等の油性基剤を用いるのが適当であり、微粉末した活性物質と均一に併和することにより調製される。

本発明に基づく医薬用組成物中の活性物質の含量は、使用条件に応じて変えることが出来、必要ならば所望の治療効果が得られる様な比率を制成しなければならぬ。投与量及び投与回数、投与される疾患の種類、症状、投与経路、患者の年齢及び体重等の条件に基づいて決定される必要があるが、一般に漸進的な投与をとる自己免疫疾患の治療に用いる際には比較的長期的な連続投与を必要とし、経口投与剤又は坐剤で処置する場合の1日当りの投与量は活性物質とし成人患者で10~500mg、

好ましくは20~300mg、毎日もしくは2~3日おきに投与するのが適当である。注射剤は、筋肉内注射が好ましいが、必要に応じて皮下、静脈内又は関節腔内による投与も採用しうる。1日当りの投与量は20~500mgが適当で、2~3回に分けて投与することも出来る。軟膏剤は接触アレルギー及びじん麻疹、掻痒等のアレルギー性皮膚炎の治療及び発症の予防に用いられ、活性物質として1~20%、好ましくは2~10%を含む様に適当な基剤と混合したものを用い、直接患部に塗布する。

前記一般式(II)で示されるベンズアニリド誘導体は公知の方法により容易に製造することが出来る。例えば、ナリチル酸誘導体のカルボキシル基を酸
 15 ヘロゲン体となし、ビリジン、N,N-ジメチルアニリン又はトリエチルアミン等の存在下に不溶性媒体中で所望のアニリン誘導体と混合させることにより、目的のベンズアニリド誘導体が得られる。又、ナリチル酸誘導体を酸ヘロゲン体とすること

なく三塩化磷、又は塩化チオニル等の脱水存在下に直接アニリン誘導体と反応させることにより、製造することも出来る。

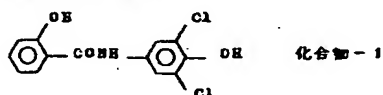
これらの反応において、ナリチル酸誘導体又はその酸ヘロゲン化物の2位が水酸基である場合はアセチル基等で保護したのち縮合することが好ましく、反応後必要に応じて常法により脱保護を行うことが出来る。

上記の方法によって得られたベンズアニリド化合物の水酸基は必要に応じてカルボン酸、又は酸ヘロゲン化物を適当な脱水剤又は酸ヘロゲン化物の存在下で反応させ、エステル化することが出来る。

以下この実験例を示す。

[実験例1]

3', 5'-ジクロル-2, 4'-ジヒドロキシベンズアニリドの製造法



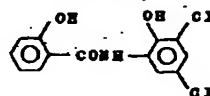
アセチルサリチル酸 25g と塩化チオニル 10g を加え 55℃ で一夜攪拌した後、過剰の塩化チオニルを減圧除去し、その残渣を 10g のアセトンに溶解し、アセチルサリチル酸塩化物のアセトン溶液を調製する。

2, 6-ジクロル-4-アミノフェノール 137g をアセトン 80ml に溶かし、ピリジン 252ml を加え、この溶液を攪拌しながら、25g のアセチルサリチル酸より調製した酸クロライドのアセトン溶液を滴下する。反応液を減圧濃縮し、残液に酢酸エチルを加えて溶解し、水、ついで 1 規定塩酸水溶液で洗滌した後、酢酸エチルを減圧除去し、残渣にメタノール、2 規定水酸化ナトリウム水溶液各 100ml を加え、2 時間攪拌し、しかる後、2 規定塩酸水溶液で酸性にすると沈殿が析出する。アセトン-水系で再結することにより、5', 5'-ジクロル-2, 4'-ジヒドロキシベンズアニリドの白色針状結晶 6.2g を得る。このものの融点は 217~219

で、収率は理論量の 78% である。

【実施例 2】

5', 5'-ジクロル-2, 4'-ジヒドロキシベンズアニリドの製造法



化合物-2

4-アミノ-2, 5-ジクロロフェノール 17g 及び 3, 5-ジメチルアニリン 25ml をアセトン 80ml に溶解し、0~5℃ に冷却したのち、アセチルサリチル酸 17g より実施例 1 の方法で調製した酸クロライドのアセトン溶液を滴下する。

反応液を減圧濃縮し、残渣残渣を 2 規定水酸化ナトリウム溶液 30ml を加え置換で攪拌し、取アセチル化を行ったのち、塩酸酸性として生成する沈殿物を分離し、活性炭で脱色後、アセトン-水系で再結晶することにより、5', 5'-ジクロル-2, 4'-ジヒドロキシベンズアニリドの白色針状結晶

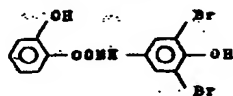
14g を得る。

収 率 49%

融 点 222~223℃

【実施例 3】

5', 5'-ジクロル-2, 4'-ジヒドロキシベンズアニリドの製造法



化合物-12

2, 6-ジクロル-4-アミノフェノール 167g とピリジン 252ml をアセトン 80ml に溶解し、アセチルサリチル酸 25g から実施例 1 より調製した酸塩化物のアセトン溶液 100ml を滴下する。

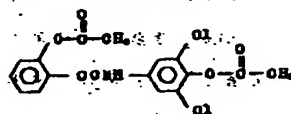
以下、実施例 1 と同様の操作により、5', 5'-ジクロル-2, 4'-ジヒドロキシベンズアニリドの白色針状結晶 10.5g を得る。

収 率 78%

融 点 182~187℃

【実施例 4】

2, 4'-ジアセトキシ-5', 5'-ジクロルベンズアニリドの製造法



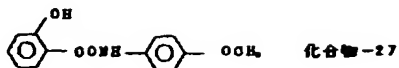
化合物-4

実施例 1 で得られた 5', 5'-ジクロル-2, 4'-ジヒドロキシベンズアニリド 4g を冷却した無水酢酸 50ml に加え、攪拌しながら濃硫酸 5ml を加え、5~6℃ で 1~2 時間反応を行う。反応後、水 500ml 中に反応液を注ぎ、析出する白色の沈殿物を採取し、水洗、乾燥後メタノールで再結晶すると 2, 4'-ジアセトキシ-5', 5'-ジクロルベンズアニリドの白色針状結晶 1.65g を得る。このものの融点は 154~156℃ で収率は理論量の 71% である。

〔実験例5〕

2-ヒドロキシ-4'-メトキシベンズアニリド

の製造法



p-アニシジン 54g、ヒリジン 45g を 200ml のアセトンに溶解し、蒸留で撹拌下にアセチルサリチル酸 5g から調製した酸クロライド溶液を滴下し、更に 1~2 時間撹拌して反応を完了する。

以下実験例 1 と同様の操作により目的とする 2-ヒドロキシ-4'-メトキシベンズアニリドが得られる。収得量 42g (収率 62%)、融点 162~163℃である。

〔実験例6〕

2-ヒドロキシ-4-メチル-4'-メトキシベンズアニリドの製造法

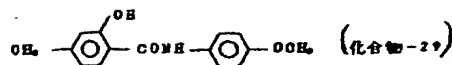
4-~~フルキサ~~・アセチルサリチル酸 5g を常法により酸クロライドとし、アセトン 50ml に溶解する。

別に、アセトン 125 ml に p-アニシジン 513g とジメチルアニリン 45ml を溶解し、前記アセトン溶液を撹拌撹拌下に滴下する。更に 2 時間撹拌した後、アセトンを減圧留去し、2N-NaOH 500ml を加え蒸留で一夜撹拌し、2N-HCl で pH 以下に調整する。生成する沈殿を分離し、ベンゼン-リグロインから再結晶することにより目的とする 4-~~フルキサ~~・2-ヒドロキシ-4'-メトキシベンズアニリド 42g を得る。(収率 63%) 融点 160~165℃である。

以下実験例として本発明の先投薬虫毒剤の種々の剤形の製造例を示す。

(1) カプセル剤

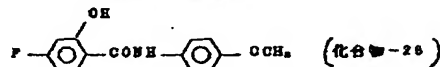
粒口投与に適用されるカプセル剤は、例えば次の様な組成で活性物質 A.I (本発明の一般式 (1) の化合物以下同じ) と賦形剤と为一に混合し



4-メチルアセチルサリチル酸 5g を常法により酸クロライドとした後、200ml のアセトンに溶解する。一方、p-アニシジン 52g、ジメチルアニリン 51g を 100ml のアセトンに溶解し、氷冷撹拌下に前記アセトン溶液を滴下し、更に 1~2 時間撹拌する。反応液を減圧蒸餾して残渣を酢酸エチルに溶解し、実験例 1 と同様の操作により目的とする 2-ヒドロキシ-4-メチル-4'-メトキシベンズアニリドが得られる。収得量 53g (収率 88%)、融点 165~166℃である。

〔実験例7〕

4-~~フルキサ~~・2-ヒドロキシ-4'-メトキシベンズアニリドの製造法



硬ゼラチンカプセルに充填することにより調製しうる。

A. I	50mg
乳糖	150mg
てんぷん	40mg
タルク	40mg
ステアリン酸マグネシウム	1mg

(2) 錠剤

圧縮錠剤は、例えば次の様な配合組成で一に混合し、通常の錠剤製造法により調製する。必要に応じて適当な崩壊性成分を加えることもできる。

A. I	100mg
Na ₂ HPO ₄	100mg
アビセル	75mg
てんぷん	50mg
タルク	7mg
ステアリン酸マグネシウム	5mg

CMO

15mg 1-Tablet (350mg)

⑧ 注射剤

本に溶解性の活性物質 (A.I.) は、適量を有機アミンを加えて可溶性にするが、プロピレングリコール等のアルコール類を併用することも可能であり、この場合には有機アミンの必要量を減少することが出来る。例えば、次の様な配合組成で通常の注射剤の製法により調製しうるが、本品は空気酸化をうけ、着色しやすいため製法は換下に注意。アンプルに充填する。

A.I. 20g (W/V)

モノメチルグルタミン 50g

ベンジルアルコール 10g

蒸留水 10g

注射用蒸留水 全量 100% (H&S-25)

⑨ 軟膏剤

ワセリン又はプラスチック等の油性基剤及び親水軟膏、親水軟膏又は親水ワセリン等の乳

剤性軟膏基剤に活性物質 (A.I.) の微粉末を加えて均一に混合して調製される。

A.I. 5g (W/W)

軟膏基剤 95g

⑩ 坐剤

カカオ脂、ワセリン脂、イムヘラゼン II 等、通常の製剤技術的に使用しうる基剤と活性物質 (A.I.) の微粉末を均一に混合し、成型する。

例えば次の様な組成で通常の坐剤の製造によって調製しうるが、必要に応じて適量を保存剤等を加えることも出来る。

A.I. 5g (W/W)

カカオ脂 65g

さらし炭 10g

エマルゲン 400 (3g/g) 5g

水 15g

⑪ 図面の簡単な説明

第 1 図は 5000 倍率により調製される海産物アレル

ルギーの増加に及ぼす化合物 1 の影響。縦軸は 24 時間後、マウス足腫脹 (mm) を示し、横軸はマウス 1 匹当たり化合物 1 の腹腔内投与及び経口投与量を示す。第 2 図はモルメントによる H&S (アレルギー性腸胃腸炎) に対する化合物 1 の炎症抑制効果を示す図。図中、①は強い炎症、②は両炎症、③は両炎症にも及ぶ炎症、④は腫瘍状態、⑤は死亡を示し、POA は Freund's の完全アジュバントを、SP は標準性蛋白を示す。第 3 図は本発明の化合物 1 がマウスの 1 次抗体産生に及ぼす影響を示す。グラフ縦軸は抗体産生の量、横軸はマウス 1 匹当たり化合物 1 の腹腔注射量を示す。

図 1

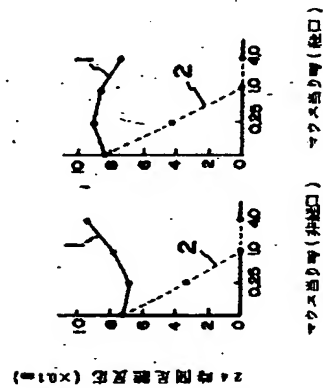
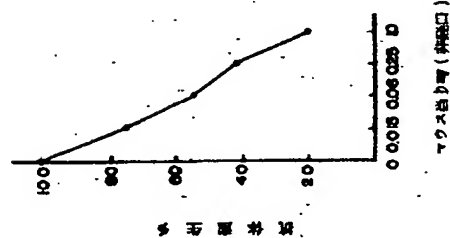


図 2



特許出願人

財団法人 微生物化学研究会

代理人

矢野 武 (外 1 名)

第 2 図

試 験 区 別	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
BP5mc9及びFQA 接 種	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
BP5mc9及びFQA 接種、化合物-1 10mgを3-21日まで 毎日腹腔内注射	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

注 ○ 軽い腹股 ⑤ 腹は腹マヒ ⑥ 前肢にも ⑦ 胸に状態 ⑧ 死亡
マヒ 及ぶマヒ

第 1 頁の続き

⑦発 明 者 高松旦

横浜市戸塚区俣野町1403番地F

リームハイツ7棟206号

同

森俊朗

藤沢市善行3の6の6

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.